



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



⑪ Numéro de publication: **0 422 719 A1**

⑫ **DEMANDE DE BREVET EUROPEEN**

⑳ Numéro de dépôt: **90202599.8**

⑤① Int. Cl.⁵: **A61L 27/00, A61K 6/033, C01B 15/16**

㉔ Date de dépôt: **28.09.90**

③① Priorité: **09.10.89 FR 8913246**

④③ Date de publication de la demande:
17.04.91 Bulletin 91/16

⑧④ Etats contractants désignés:
BE DE ES FR GB IT SE

⑦① Demandeur: **Ledard, Claude**
8 Boulevard Lelasseur
F-44000 Nantes(FR)

⑦② Inventeur: **Ledard, Claude**
8 boulevard Lelasseur
F-44000 Nantes(FR)
Inventeur: **Benque, Edmond**
63 boulevard Lazare Carnot
F-31000 Toulouse(FR)
Inventeur: **Lacout, Jean-Louis**
36 rue de la Colombette
F-31000 Toulouse(FR)
Inventeur: **Rey, Christian**
Bois des Dames Aureville
F-31320 Castenet Tolosan(FR)

⑦④ Mandataire: **Barre, Philippe**
Cabinet Barre-Gatti-Laforgue 95 rue des
Amidonniars
F-31069 Toulouse Cédex(FR)

⑤④ **Biomatériau de comblement osseux ou dentaire, et procédé de préparation.**

⑤⑦ L'invention concerne un biomatériau de comblement osseux ou dentaire à base d'apatite. Elle vise à fournir un biomatériau ayant des propriétés antiseptiques en vue de limiter la prolifération des micro-organismes dans le site d'implantation. Le biomatériau conforme à l'invention est à base de phosphate de calcium oxygéné ayant une structure apatitique qui possède des espèces oxygénées à des degrés d'oxydation supérieurs ou égaux à - 2. Ce biomatériau associe aux propriétés antiseptiques sus-évoquées, une excellente biocompatibilité, une très faible solubilité et de bonnes qualités d'ostéo-induction.

EP 0 422 719 A1

BIOMATERIAU DE COMPLEMENT OSSEUX OU DENTAIRE, ET PROCEDES DE PREPARATION

L'invention concerne un biomatériau de comblement osseux ou dentaire. Elle vise un biomatériau de comblement apte à favoriser une réhabilitation par le tissu osseux ou dentaire et à permettre une substitution partielle ou totale du biomatériau par le tissu. L'invention s'étend à des procédés de fabrication dudit biomatériau.

On connaît des biomatériaux de comblement intraosseux ou intradentaires à base de phosphate de calcium et en particulier à base d'hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. On pourra par exemple se reporter aux publications suivantes concernant ces biomatériaux apatitiques : "Jarcho M, Kay J.F, Gumaer KI, Doremus R.H and Drobeck H.P Tissue, cellular and subcellular events at a bone-ceramic hydroxylapatite interface. J. Bioeng 1, 79, 1977"; "Ducheyne P and de Groot K, In vivo surface activity of a hydroxyapatite alveolar bone substitute, J. Biomed. Mater. Res. 14, 225, 1980" ; "Klaas de Groot, Bioceramics of calcium phosphate, C.R.S. Press Inc., New-York, 1983".

Ces biomatériaux sont connus pour présenter les propriétés suivantes :

- excellente biocompatibilité (risques très limités de réactions de rejets inflammatoires),
- très faible solubilité (faible tendance à disparaître dans le milieu au cours des quelques mois succédant l'implantation),
- qualité d'ostéoinduction (tendance à favoriser la reconstruction osseuse).

Ces propriétés qui rendent ce matériau très approprié à la réalisation de comblements osseux ou dentaires, proviennent de leur composition chimique et de leur structure cristallographique, qui sont voisines de celles de la partie minérale des tissus calcifiés.

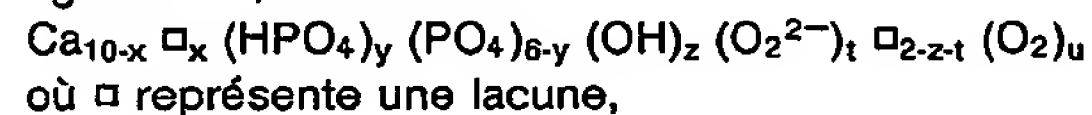
Toutefois, ces biomatériaux apatitiques connus sont inactifs vis-à-vis des micro-organismes pathogènes susceptibles de se développer dans les tissus. Ainsi, ces biomatériaux ont essentiellement un rôle mécanique (remplissage et substitution osseuse) et n'ont aucune propriété antiseptique : ils sont totalement inaptes à limiter le développement des bactéries, champignons... qui sont présents avant l'intervention (caries, maladies parodontales...) ou qui en sont la conséquence (asepties imparfaites notamment en bouche, inflammations...).

La présente invention se propose de fournir un nouveau biomatériau présentant, comme les matériaux connus précités, une structure apatitique lui conférant d'excellentes qualités de biocompatibilité et d'ostéoconduction ou induction, mais qui présente des propriétés antiseptiques le rendant capable de limiter la prolifération des microorganismes dans le site d'implantation.

L'invention vise ainsi à protéger l'allogreffe de façon locale au niveau du site d'implantation, en évitant une utilisation d'antibiotiques par voie générale. Elle vise également à assurer cette protection d'une façon continue dans le temps, pendant toute la durée où le matériau reste présent dans le site d'implantation.

Un autre objectif de l'invention est de permettre, suivant le cas traité, d'adapter le champ d'action du biomatériau au caractère des micro-organismes présents ou susceptibles de se développer sur le site d'implantation (en particulier en vue de lutter de façon spécifique contre les micro-organismes anaérobies).

A cet effet, le biomatériau de comblement osseux ou dentaire conforme à l'invention comprend du phosphate de calcium oxygéné (ApO) ayant une structure apatitique possédant des espèces oxygénées à des degrés d'oxydation supérieurs ou égaux à -2, de formule :



où \square représente une lacune,

$$0 \leq x \leq 1$$

$$0 \leq y \leq 1$$

$$0 \leq t \leq 1$$

$$0 \leq u \leq 1$$

$$u + t \geq 0,2$$

$$\text{et } z = 2 + y - x - 2t$$

Un tel biomatériau contient dans les tunnels de sa structure apatitique au moins l'une des deux espèces suivantes : O_2^{2-} , O_2 . Les expérimentations ont montré que ces espèces étaient libérées dans le milieu soit par dissolution progressive du matériau, soit par échange chimique avec le milieu.

L'espèce O_2^{2-} (ion peroxyde) ainsi libérée agit in situ pour détruire les micro-organismes avec une efficacité bien connue en soi pour cette espèce ; l'espèce O_2 (oxygène moléculaire) agit de façon spécifique sur les micro-organismes anaérobies en augmentant localement la pression partielle d'oxygène. Tout en conservant une structure apatitique et les propriétés afférentes de biocompatibilité et d'ostéoconduction ou induction le biomatériau conforme à l'invention engendre donc un effet de protection du site d'implantation à l'égard de toute apparition ou développement d'organismes pathogènes. La vitesse de dissolution dans le milieu et donc la durée d'efficacité du matériau peuvent être ajustées en faisant varier la stoechiométrie de la structure apatitique et notamment les coefficients x et y , le nombre de lacunes en site calcique et d'ions HPO_4 étant directement lié à la vitesse de dissolution (matériau peu soluble pour $x < 0,1$, $y < 0,1$ et de solubilité croissante pour $x > 0,1$, $y > 0,1$).

L'invention vise en particulier trois sous-familles du biomatériau précédemment défini.

Le biomatériau de la première sous-famille contient, à la fois, les espèces O_2^{2-} et O_2 de façon à présenter une action antiseptique générale sur les micro-organismes (présence de O_2^{2-}), renforcée vis-à-vis des anaérobies (présence de O_2). Le biomatériau de cette sous-famille comprend un phosphate de calcium oxygéné (ApO) de structure apatitique dans laquelle les coefficients sont tels que :

$$0,1 \leq x \leq 0,4$$

y peu différent de x

$$t \leq \frac{1}{2}$$

$$0,2 \leq u \leq 0,8$$

Il est à noter que la solubilité de ce biomatériau peut être ajustée dans une large plage depuis une faible solubilité (x de l'ordre de 0,1) jusqu'à une solubilité élevée (x de l'ordre de 0,4).

Le biomatériau de la deuxième sous-famille contient essentiellement l'espèce O_2^{2-} et simplement des traces de l'espèce O_2 . Ce matériau très riche en groupement peroxyde présente une action générale antiseptique très efficace. Le biomatériau de cette sous-famille comprend un phosphate de calcium oxygéné (ApO) de structure apatitique dans laquelle les coefficients sont tels que :

$$0,2 \leq x \leq 0,5$$

y peu différent de x

$$0,8 \leq t \leq 1$$

$$u < 0,1$$

Ce matériau (issu comme on le verra d'une fabrication à basse température) possède un coefficient x supérieur à 0,2 (nombre de lacune relativement élevé) et présente donc une solubilité généralement plus importante que le matériau précédent.

Le biomatériau de la troisième sous-famille contient exclusivement l'espèce O_2 de sorte qu'il présente une action sélective très efficace vis à vis des micro-organismes anaérobies. Ce biomatériau est important en pratique car ce sont généralement des micro-organismes de ce type qui se développent en milieu d'implantation; en outre, dans certains cas, il est préférable d'éviter l'action générale de destruction de l'espèce O_2^{2-} , en particulier pour préserver certains micro-organismes qui développent une action favorable. Le biomatériau de cette troisième sous-famille comprend un phosphate de calcium oxygéné (ApO) de structure apatitique suivante :



$$\text{où } 0 \leq x \leq 0,2$$

$$0 \leq y \leq 0,2$$

$$0,2 \leq u \leq 0,8$$

La solubilité de ce biomatériau est généralement plus faible que celle des précédents, mais peut être ajustée à une valeur parfaitement satisfaisante pour assurer une pression locale d'oxygène

suffisante. Il est à noter que, généralement, la présence de micro-organismes pathogènes engendre une baisse locale du pH qui augmente la dissolution du biomatériau et donc le dégagement d'oxygène au moment du besoin.

Le biomatériau de l'invention peut être utilisé, notamment dans le cas où les espèces actives O_2^{2-} et O_2 sont en faible teneur (t et u faibles) ou lorsque l'on se trouve sur un site à haut risque inflammatoire (intervention sur carie ou maladie osseuse telle qu'ostéomyélite). Il peut également être utilisé mélangé à d'autres matériaux de complément connus afin d'associer les qualités propres de ces matériaux à celles antiseptiques du biomatériau conforme à l'invention ; les additifs peuvent en particulier être les suivants : phosphate de calcium apatitique non oxygéné, encore désigné par hydroxyapatite HAp de formule $Ca_{10} (PO_4)_6 (OH)_2$ - (caractéristiques : très faible solubilité, bonne tenue mécanique et porosité élevée donnant de bonnes qualités d'ostéoconduction) ; phosphate tricalcique PTCa de formule $Ca_3 (PO_4)_2$ (généralement à faible teneur en raison de sa forte solubilité) ; carbonate de calcium $CaCO_3$ (naturel ou synthétique) et/ou sulfate de calcium $CaSO_4$ (faible coût et prise avec expansion) ; dérivés sanguins de coagulation, en particulier fibrine, fibrinogène... ; collagène (malléabilité et adhérence) éventuellement complété de glycoaminoglycanes et de sulfate de chondroïtine (action ostéoinductrice).

De plus, il est possible de substituer partiellement des ions hydrogénophosphates (HPO_4) par des ions carbonates (CO_3) dans la structure apatitique oxygénée du biomatériau conforme à l'invention. Cette substitution rapproche encore la composition du biomatériau de celle de la partie minérale de l'os, tout en conservant le caractère antiseptique au biomatériau.

L'invention s'étend à des procédés de fabrication du biomatériau conforme à l'invention permettant d'obtenir l'apatite oxygénée appropriée à chaque application, procédés permettant en particulier de fabriquer des biomatériaux conformes aux trois sous-familles définies précédemment.

Il est à noter que de l'apatite oxygénée a déjà été obtenue en laboratoire par Dale R. SIMPSON et 1969 ("D.R. SIMPSON, oxygen rich apatite, The Am. Min. vol. 54 p. 560-562, March-April 69"). D. SIMPSON a montré que ce composé était soluble dans l'acide chlorhydrique et dégageait de l'oxygène apte à oxyder à chaud une électrode en cuivre. Toutefois, cette fabrication ponctuelle de laboratoire ne permet pas d'ajuster les coefficients des diverses espèces et d'obtenir le corps que l'on désire.

Selon un premier mode de préparation conforme à l'invention, le procédé consiste à mettre en suspension un phosphate calcique du groupe sui-

vant : phosphate tricalcique (PTCa), phosphate dicalcique (DCPD), ou phosphate octocalcique (OCP), dans une solution aqueuse contenant de l'eau oxygénée, à laisser évoluer la suspension à un pH, à une température et pendant une durée fonctions des coefficients x, y, t et u désirés, à séparer physiquement la phase solide et la phase liquide et à sécher ladite phase solide.

Selon un autre mode de préparation, le procédé consiste à verser dans une solution aqueuse contenant de l'eau oxygénée, d'une part un sel soluble de calcium, d'autre part du phosphate d'ammonium, à un pH, à une température et pendant une durée fonctions des coefficients x, y, t et u désirés, à laisser mûrir le précipité obtenu dans la solution-mère, à séparer physiquement la phase solide et la phase liquide et à sécher ladite phase solide.

Le second mode de préparation sera de préférence choisi pour favoriser la teneur en ions peroxyde du biomatériau.

Pour optimiser cette préparation, et éviter la formation de phases étrangères et des pertes en réactifs, les quantités de sels de calcium et de phosphate d'ammonium versées dans la solution aqueuse d'eau oxygénée sont telles que le rapport atomique $\frac{Ca}{P}$ soit compris entre 1,4 et 2.

Dans les deux modes de préparation, le pH lors de l'évolution ou de la précipitation est avantageusement fixé à une valeur comprise entre 5 et 9, d'autant plus élevée que l'on désire des coefficients x et y plus faibles dans les plages $0 \leq x \leq 1$ et $0 \leq y \leq 1$. De préférence le pH est ajusté par ajout d'ammoniaque, l'ion ammonium étant peu gênant et facilement éliminable.

La température lors de l'évolution ou de la précipitation est avantageusement fixée à une valeur comprise entre 20° C et 100° C, d'autant plus élevée que l'on désire des coefficients x, y et t plus faibles dans les plages $0 \leq x \leq 1$, $0 \leq y \leq 1$ et $0 \leq t \leq 1$.

La durée pendant laquelle on laisse évoluer la suspension ou pendant laquelle s'effectue la précipitation est un facteur important pour obtenir, à la fois, une bonne cristallisation de l'apatite et des valeurs désirées des coefficients x, y et t.

Cette durée est avantageusement fixée à une valeur comprise entre 2 minutes et 300 heures, d'autant plus longue que l'on désire des coefficients x, y et t plus faibles dans les plages $0 \leq x \leq 1$ et $0 \leq y \leq 1$ et $0 \leq t \leq 1$.

Dans le cas de la préparation par précipitation, le versement des sels de calcium et de phosphore s'effectue progressivement dans la solution d'eau oxygénée pendant la durée sus-évoquée. Pour les longues durées, ce versement est fait en goutte à goutte avec un débit approprié.

La concentration en eau oxygénée de la solu-

tion aqueuse joue sur les teneurs en O_2^{2-} et en O_2 . De préférence, on choisit une solution aqueuse d'eau oxygénée de concentration comprise entre 5 et 50 volumes, d'autant plus élevée que l'on désire des coefficients t et u plus élevés dans les plages $0 \leq t \leq 1$ et $0 \leq u \leq 1$.

Quel que soit le mode de mise en oeuvre, le procédé de préparation peut être complété par une étape supplémentaire de calcination de la phase solide à une température inférieure à 450° C, d'autant plus élevée que l'on désire un coefficient t plus faible dans la plage $0 \leq t \leq 1$.

Cette calcination modifie la composition du biomatériau en transformant l'espèce peroxyde O_2^{2-} en oxygène moléculaire O_2 . La calcination réduit donc le coefficient t au profit du coefficient u, mais on observe toutefois une perte globale d'oxygène, la somme t + u obtenue étant inférieure à la somme t + u initiale. De plus, cette calcination améliore l'état de cristallisation et réduit la solubilité du produit. Comme elle est effectuée à des températures moyennes, la solubilité finale du biomatériau calciné demeure toutefois suffisante pour lui conférer de bonnes propriétés antiseptiques dans le site d'implantation.

Pour l'obtention d'un biomatériau constitué par une association d'apatite oxygénée et d'un ou de matériaux supplémentaires du groupe évoqué précédemment, il suffit de mélanger par voie physique et de façon homogène la phase solide sèche de ApO obtenue avec le ou les composés désirés se présentant sous forme divisée ou sous forme de gel aqueux : HAp, PTCa, $CaCO_3$, $CaSO_4$, collagène, glycoaminoglycane, sulfate de chondroïtine.

Dans le cas d'un gel aqueux de collagène, le mélange peut ensuite être lyophilisé afin d'obtenir une poudre sèche prête à l'emploi.

Pour préparer le biomatériau déjà défini dans lequel des ions hydrogénophosphates sont substitués par des ions carbonates, on ajoute dans la solution contenant l'eau oxygénée du carbonate de potassium ou de sodium et le procédé est ensuite mis en oeuvre comme déjà défini. En pratique, cet ajout demeure très faible par rapport à la quantité des autres composants

$$\left(\text{rapport atomique } \frac{CO_3}{Ca} < 0,05 \right)$$

afin d'obtenir une substitution très minoritaire.

La description qui suit fournit des exemples de préparation de biomatériaux conformes à l'invention et des résultats d'essais.

Les méthodes d'analyses utilisées sont dans tous les cas des méthodes classiques de la chimie du solide :

- diffraction des rayons X : la diffraction des rayons

X permet de mettre en évidence la structure cristallographique en effectuant le dénombrement, la classification et la détermination des positions des raies. Un examen plus poussé permet en outre de définir les paramètres cristallins de la maille, et de donner une idée (largeur de raies) de l'état de cristallisation. Enfin, la diffraction des rayons X permet de s'assurer, à la sensibilité de la méthode, de la pureté du composé,

- spectrométrie d'absorption infrarouge : la spectrométrie d'absorption infrarouge permet de mettre en évidence les liaisons dans des groupements atomiques. Dans le cas des apatites on peut en particulier mettre en évidence :

. les ions hydroxydes : bandes à 3560 et 740 cm^{-1} ,

. les ions carbonates domaine 1420 cm^{-1} ,

. les bandes phosphate et plus particulièrement la bande due aux ions $\text{HPO}_4^{=}$,

- détermination du phosphore : la détermination du phosphore (ions orthophosphate) est effectuée par analyse chimique par une méthode colorimétrique : formation du complexe phosphomolybdique jaune. Par cette méthode on détermine l'ensemble des ions orthophosphate (dans notre cas PO_4^{3-} et $\text{HPO}_4^{=}$),

- détermination des ions $\text{HPO}_4^{=}$: la détermination des seuls ions $\text{HPO}_4^{=}$ est effectuée par analyse avant et après calcination à 1000° C. Le dosage avant calcination permet de doser l'ensemble des ions PO_4^{3-} et $\text{HPO}_4^{=}$. La calcination transforme les ions $\text{HPO}_4^{=}$ en ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$. Le dosage après calcination et sans hydrolyse ne dose pas les ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$. La différence entre le dosage avant et après calcination permet d'obtenir la valeur correspondant aux seuls ions $\text{HPO}_4^{=}$,

- détermination de l'oxygène moléculaire : la détermination de l'oxygène moléculaire s'effectue par mesure du volume dégagé lors de la dissolution acide ; en présence de carbonate on doit préalablement absorber le CO_2 dégagé sur de l'amiant sodée,

- détermination des ions $\text{O}_2^{=}$: après dissolution acide (acide perchlorique 1 N) on dose les ions $\text{O}_2^{=}$ par manganimétrie.

EXEMPLE 1 : PREPARATION DE BIOMATERIAU

On prépare une solution de 1 litre d'eau oxygénée à 30 volumes par dilution d'une solution commerciale à 110 volumes et on dissout dans cette solution 2,6 grammes de phosphate diammonique $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (solution 1). On prépare une solution de 100 millilitres d'eau contenant 7,08 grammes de nitrate de calcium $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ (solution 2). On porte la solution 1 à la température de 90° C et on amène le pH à la valeur de 8,5 par ajout de la

quantité nécessaire d'ammoniaque. On verse la solution 2 dans la solution 1 en une seule fois ; on laisse une heure à la température de 90° C en maintenant le pH à la valeur de consigne 8,5. On sépare le précipité de sa solution mère par filtration sur buchner et on sèche le solide recueilli.

Tous les réactifs sont de qualité pharmaceutique. Cette préparation permet de préparer environ 3,5 grammes de biomatériau.

Le biomatériau est une apatite de formule : $\text{Ca}_{9,3}(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4)(\text{O}_2^{=})_{0,85}(\text{OH})(\text{O}_2)_{0,05}$

EXEMPLE DE PREPARATION N° 2 :

On prépare une solution de 1 litre d'eau oxygénée à 30 volumes par dilution d'une solution commerciale à 110 volumes et on en fixe le pH à la valeur 8,5 par ajout d'une quantité suffisante d'ammoniaque diluée (au dixième). 50 grammes de phosphate tricalcique $\beta(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$ finement broyés sont ajoutés à cette solution. Cette suspension est agitée lentement au moyen d'un agitateur magnétique et chauffée à reflux pendant 10 heures à une température proche de l'ébullition. Une électrode de mesure du pH, supportant la température (type Métrohm), permet de contrôler le pH en permanence : en cas de variation il est ramené à la valeur de consigne 8,5 par ajout d'ammoniaque diluée au dixième. On laisse ensuite refroidir ; on sépare le solide de la solution par filtration sur buchner et on lave avec 2 litres d'eau distillée jusqu'à éliminer tous les sels en solution. On sèche le solide dans une étuve à 30° C pendant 5 heures, puis on le chauffe à l'air pendant 1 heure à 430° C. On obtient ainsi environ 45 grammes d'un solide pulvérulent ; il est caractérisé par diffraction des rayons X, spectrométrie d'absorption infrarouge et analyse chimique. Il répond à la formule :



EXEMPLE 3 : PREPARATION D'UNE PATE DE COMPLEMENT CANALAIRE

Une première préparation très simple a été réalisée ; elle consiste à mélanger soigneusement : 0,5 gramme d'apatite oxygénée préparée selon l'exemple n° 1, avec 0,5 gramme d'hydroxyapatite stoechiométrique et 0,1 gramme de sulfate de calcium anhydre (CaSO_4) . Chacun des différents constituants est préalablement broyé (environ 5 microns) ; le mélange est également soigneusement homogénéisé. Il peut être conservé en flacon hermétiquement bouché. Au moment de l'emploi le mélange est rendu pâteux et amené à la consistance voulue par adjonction d'eau distillée (environ 1 ml pour 50 mg). Cette pâte peut être alors utilisée

pour l'obturation canalaire au moyen des instruments professionnels couramment employés dans ce cas.

EXEMPLE 4 DE PREPARATION D'UNE PATE

La préparation est analogue à celle précédemment décrite ; on remplace simplement l'ajout d'eau distillée par l'ajout d'une solution à 0,5 % de collagène natif de veau.

EXEMPLE 5 DE PREPARATION DE GRANULES

Selon la méthode de préparation de l'exemple n° 2 on peut également préparer des granules. Pour cela après lavage et filtration le solide est récupéré, séché à l'étuve à 80° C jusqu'à ce qu'il soit amené à une consistance convenant à la granulation (pourcentage en eau voisin de 10 %). Il est ensuite granulé dans une machine de type "FREWITT MG 6A". Le tamis supérieur est fixé à 400 microns et la coupure inférieure à 200 microns. Les granules sont ensuite calcinés à l'air 1 heure à 430° C.

EXEMPLE 6 : RESULTATS D'ESSAIS IN VITRO

L'efficacité des biomatériaux conformes à l'invention à base d'apatites oxygénées a été testée in vitro sur des bactéries anaérobies. Deux souches ont été retenues :

- bacteroides fragilis (collection Institut Pasteur NCTC 9343),
- fusobacterium nucleatum (collection Institut Pasteur Ref 6039).

Ces deux souches ont été choisies parce qu'elles sont strictement anaérobies et qu'on les retrouve dans différentes pathologies humaines.

Le principe de ces tests in vitro consiste à mettre en présence les bactéries anaérobies avec différentes concentrations d'apatites en suspension (bouillon) dans des conditions contrôlées d'anaérobiose et à déterminer le nombre de ces bactéries après 48 heures et 72 heures de contact. Le témoin est constitué par une apatite ne contenant pas d'espèces oxygénées.

On observe dans les deux cas une réduction importante par un facteur 1000 du nombre de bactéries anaérobies.

EXEMPLE 7 : IMPLANTATION IN VIVO

Quelques tests ont été réalisés in vivo sur des chiens aussi bien en obturation canalaire qu'en

comblement parodontal. Les implants se comportent de façon analogue aux implants réalisés à partir d'autres hydroxyapatites. On ne note aucun signe de rejet ou d'inflammation.

5

Revendications

1/ - Biomatérial de comblement osseux ou dentaire, ayant des propriétés antiseptiques en vue de limiter la prolifération des micro-organismes dans le site d'implantation, caractérisé en ce qu'il comprend du phosphate de calcium oxygéné (ApO) ayant une structure apatitique possédant des espèces oxygénées à des degrés d'oxydation supérieurs ou égaux à -2, de formule :



où \square représente une lacune,

$$0 \leq x \leq 1$$

$$0 \leq y \leq 1$$

$$0 \leq t \leq 1$$

$$0 \leq u \leq 1$$

$$u + t \geq 0,2$$

$$\text{et } z = 2 + y - x - 2t$$

2/ - Biomatérial selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend un phosphate de calcium oxygéné (ApO) de structure apatitique dans laquelle les coefficients sont tels que :

$$0,1 \leq x \leq 0,4$$

y peu différent de x

$$t \leq \frac{y}{2}$$

$$0,2 \leq u \leq 0,8$$

3/ - Biomatérial selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend un phosphate de calcium oxygéné (ApO) de structure apatitique dans laquelle les coefficients sont tels que :

$$0,2 \leq x \leq 0,5$$

y peu différent de x

$$0,8 \leq t \leq 1$$

$$u < 0,1$$

4/ - Biomatérial selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend un phosphate de calcium oxygéné (ApO) de structure apatitique suivante :



où $0 \leq x \leq 0,2$

$$0 \leq y \leq 0,2$$

$$0,2 \leq u \leq 0,8$$

5/ - Biomatérial selon l'une des revendications 1, 2, 3 ou 4, caractérisé en ce qu'il comprend un mélange du phosphate de calcium apatitique oxygéné (ApO) de formule précitée et d'un phosphate de calcium apatitique non oxygéné (HAp) de formule : $\text{Ca}_{10} (\text{PO}_4)_6 (\text{OH})_2$

6/ - Biomatérial selon l'une des revendications 1, 2, 3 ou 4, caractérisé en ce qu'il comprend un mélange du phosphate de calcium apatitique oxygéné (ApO) de formule précitée et d'un phosphate tricalcique (PTCa) de formule : $\text{Ca}_3 (\text{PO}_4)_2$.

7/ - Biomatérial selon l'une des revendications 1, 2, 3 ou 4, caractérisé en ce qu'il comprend un mélange du phosphate de calcium apatitique oxygéné (ApO) de formule précitée et de carbonate de calcium CaCO_3 et/ou sulfate de calcium CaSO_4 .

8/ - Biomatérial selon l'une des revendications 1, 2, 3 ou 4, caractérisé en ce qu'il comprend un mélange de phosphate de calcium apatitique oxygéné (ApO) de formule précitée et d'un collagène.

9/ - Biomatérial selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il comprend un mélange du phosphate de calcium apatitique oxygéné (ApO), de collagène, de glycoaminoglycanes et de sulfate de chondroïtine.

10/ - Biomatérial selon l'une des revendications 1, 2, 3 ou 4, caractérisé en ce qu'il comprend un mélange de phosphate de calcium apatitique oxygéné (ApO) de formule précitée et de dérivés sanguins de coagulation, en particulier fibrine, fibrinogène.

11/ - Biomatérial selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend du phosphate de calcium oxygéné (ApO) de structure apatitique dans laquelle une fraction des ions hydrogénophosphates (HPO_4) est substituée par des ions carbonates (CO_3).

12/ - Procédé de préparation d'un biomatérial conforme à l'une des revendications 1, 2, 3 ou 4, caractérisé en ce qu'il consiste à mettre en suspension un phosphate calcique du groupe suivant : phosphate tricalcique (PTCa), phosphate dicalcique (DCPD) ou phosphate octocalcique (OCP), dans une solution aqueuse contenant de l'eau oxygénée, à laisser évoluer la suspension à un pH, à une température et pendant une durée fonctions des coefficients x, y, t et u désirés, à séparer physiquement la phase solide et la phase liquide et à sécher ladite phase solide.

13/ - Procédé de préparation d'un biomatérial conforme à l'une des revendications 1, 2, 3 ou 4, caractérisé en ce qu'il consiste à verser dans une solution aqueuse contenant de l'eau oxygénée, d'une part un sel soluble de calcium, d'autre part du phosphate d'ammonium, à un pH, à une température et pendant une durée fonctions des coefficients x, y, t et u désirés, à laisser mûrir le précipité obtenu dans la solution-mère, à séparer physiquement la phase solide et la phase liquide et à sécher ladite phase solide.

14/ - Procédé de préparation selon la revendication 13, caractérisé en ce que les quantités de sel de calcium et de phosphate d'ammonium versées dans la solution aqueuse d'eau oxygénée sont telles que le rapport atomique $\frac{\text{Ca}}{\text{P}}$ soit compris entre 1,4 et 2.

15/ - Procédé de préparation selon l'une des revendications 12, 13 ou 14, caractérisé en ce que le pH lors de l'évolution ou de la précipitation est fixé à

une valeur comprise entre 5 et 9, d'autant plus élevée que l'on désire des coefficients x et y plus faibles dans les plages $0 < x \leq 1$ et $0 < y \leq 1$.

16/ - Procédé de préparation selon l'une des revendications 12, 13, 14 ou 15, caractérisé en ce que la température lors de l'évolution ou de la précipitation est fixée à une valeur comprise entre 20°C et 100°C , d'autant plus élevée que l'on désire des coefficients x, y et t plus faibles dans les plages $0 < x \leq 1$, $0 < y \leq 1$ et $0 \leq t \leq 1$.

17/ - Procédé de préparation selon l'une des revendications 12, 13, 14, 15 ou 16, caractérisé en ce que la durée pendant laquelle on laisse évoluer la suspension ou pendant laquelle s'effectue la précipitation est fixée à une valeur comprise entre 2 minutes et 300 heures, d'autant plus longue que l'on désire des coefficients x, y et t plus faibles dans les plages $0 \leq x \leq 1$ et $0 \leq y \leq 1$ et $0 \leq t \leq 1$.

18/ - Procédé de préparation selon l'une des revendications 12 à 17, caractérisé en ce que la solution aqueuse contenant de l'eau oxygénée est choisie de concentration comprise entre 5 et 50 volumes, d'autant plus élevée que l'on désire des coefficients t et u plus élevés dans les plages $0 \leq t \leq 1$ et $0 \leq u \leq 1$.

19/ - Procédé de préparation selon l'une des revendications 12 à 18, caractérisé en ce qu'il comprend une étape supplémentaire de calcination de la phase solide séparée, à une température inférieure à 450° , d'autant plus élevée que l'on désire un coefficient t plus faible dans la plage $0 \leq t \leq 1$.

20/ - Procédé selon la revendication 12 pour préparer un biomatérial conforme à la revendication 2, caractérisé en ce qu'il consiste :

- . à préparer une solution aqueuse d'eau oxygénée de concentration comprise entre 25 et 35 volumes,
- . à mettre en suspension le PTCa dans ladite solution aqueuse à une concentration comprise entre 10 et 50 g par litre,

- . à laisser évoluer à reflux la suspension à un pH compris entre 8 et 9, et à une température et pendant une durée correspondant à la plage hachurée A du diagramme de la figure 1,

- . à séparer la phase solide et à la sécher à une température inférieure à 100°C .

21/ - Procédé selon la revendication 20 pour préparer un biomatérial conforme à la revendication 2 ayant une teneur réduite d'ions peroxyde O_2^{2-} , caractérisé en ce que, une fois séchée, la phase solide est calcinée à une température comprise entre 150° et 300° , d'autant plus élevée que l'on désire un coefficient t plus faible.

22/ - Procédé selon la revendication 13 pour préparer un biomatérial conforme à la revendication 3, caractérisé en ce qu'il consiste :

- . à préparer une solution aqueuse d'eau oxygénée de concentration comprise entre 25 et 35 volumes,
- . à verser dans ladite solution aqueuse d'eau oxy-

génée, d'une part, une solution aqueuse de nitrate ou d'acétate de calcium, d'autre part, une solution aqueuse de phosphate d'ammonium, de façon que le rapport atomique $\frac{Ca}{P}$ soit compris entre 1,5 et 1,7

5

. à mélanger les solutions à un pH compris entre 8 et 9, à une température comprise entre 75° C et 100° C et pendant une durée comprise entre 2 et 10 minutes,

. à séparer, au terme de la durée précitée, la phase solide et à la sécher à une température inférieure à 100° C.

10

23/ - Procédé selon la revendication 12 pour préparer un biomatériau conforme à la revendication 4, caractérisé en ce qu'il consiste :

15

. à préparer une solution aqueuse d'eau oxygénée de concentration comprise entre 25 et 35 volumes,

. à mettre en suspension le PTCa dans ladite solution aqueuse à une concentration comprise entre 10 g et 50 g par litre,

20

. à laisser évoluer à reflux la suspension à un pH compris entre 8 et 9, et à une température et pendant une durée correspondant à la plage hachurée A du diagramme de la figure 1,

. à séparer la phase solide, à la sécher et à la calciner à une température comprise entre 400° C et 450° C.

25

24/ - Procédé de préparation selon l'une des revendications 12 à 23 en vue d'obtenir un biomatériau conforme à l'une des revendications 5 à 9, caractérisé en ce que la phase solide sèche est mélangée avec au moins un composé du groupe suivant, se présentant sous forme divisée ou sous forme de gel aqueux : HAp, PTCa, CaCO₃, CaSO₄, collagène, glycoaminoglycane, sulfate de chondroïtine.

30

35

25/ - Procédé de préparation selon l'une des revendications 12 à 24, en vue d'obtenir un biomatériau conforme à la revendication 10, caractérisé en ce que l'on ajoute dans la solution contenant l'eau oxygénée du carbonate de potassium, ou de sodium.

40

45

50

55

8



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numero de la demande

EP 90 20 2599

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)
A	EP-A-0 324 425 (ASAHI) * Revendications; colonne 2, lignes 35-40 * ---	1	A 61 L 27/00 A 61 K 6/033 C 01 B 15/16
A	EP-A-0 214 070 (BIOETICA) * Revendications * ---	9	
A	EP-A-0 166 263 (THE GREEN CROSS CORP.) * Revendication 1 * ---	10	
A	EP-A-0 284 074 (R. EWERS) * Revendications * ---	11	
A	JOURNAL OF INORGANIC & NUCLEAR CHEMISTRY, vol. 40, no. 1, 1978, pages 27-30, Pergamon Press, GB; C. REY et al.: "Some features of the incorporation of oxygen in different oxidation states in the apatitic lattice - III" * Page 27, paragraphe 2: "Experimental" * -----	12-25	
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
Lien de la recherche LA HAYE			Date d'achèvement de la recherche 07-01-1991
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			Examineur COUSINS-VAN STEEN G. I. L.
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant